

Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН

PONTUS EUXINUS
ПОНТ ЭВКСИНСКИЙ : XI



ПОНТ ЭВКСИНСКИЙ – 2019

XI Всероссийская научно-практическая конференция для молодых
учёных по проблемам водных экосистем,

посвященная памяти д.б.н., проф. С. Б. Гулина

Материалы конференции

Севастополь, 23–27 сентября 2019 г.

Севастополь
ФИЦ ИнБЮМ

2019

- Science and Pollution Research. 2016. Vol. 23, iss. 17. P. 17255–17268. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6678-1>
2. Цыбульский И. Е., Сазыкина М. А. Новые биосенсоры для мониторинга токсичности среды на основе морских люминесцентных бактерий // Прикладная биохимия и микробиология. 2010. Т. 46, № 5. С. 552–557.
 3. Сазыкина М. А., Сазыкин И. С., Хмелевцова Л. Е., Селиверстова Е. Ю., Карчава Ш. К., Журавлева М. В., Кудеевская Е. М. Оценка загрязнения донных отложений Нижнего Дона методами биотестирования и химического анализа // Валеология. 2016. № 4. С. 5–12. <https://doi.org/10.18522/2218-2268-2016-4-5-12>

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ВЫСОКОМИНЕРАЛИЗОВАННОЙ ВОДНОЙ СРЕДЫ РАЧКОВЫМИ БИОТЕСТАМИ

Артына Н.К., Григорьев Ю.С., Шашкова Т.Л.

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск

Ключевые слова: биотестирование, *artemia salina*, науплии артемий, чувствительность, выживаемость, культивационные среды

В настоящее время для определения токсичности загрязняющих веществ, а также для оценки экологического состояния солёных водоемов, в качестве тест-объекта используется жаброногий рачок артемия *Artemia salina* L. Основными утвержденными методиками биотестирования на артемиях в Российской Федерации являются методика определения токсичности высокоминерализованных поверхностных и сточных вод, почв и отходов по выживаемости солоноватоводных рачков *Artemia salina* L. ФР 1.1.39.2006.02505 [1] и ГОСТ Р 53886-2010 «Вода. Методы определения токсичности по выживаемости морских ракообразных [2].

Регламент проведения процедуры биотестирования на артемиях в этих методиках существенно различается. Основные расхождения касаются составов культивационной среды, плотности посадки науплиусов, времени экспозиции.

Согласно методике [1] в качестве культивационной воды используется отстоянная водопроводная вода с добавлением хлорида натрия в концентрации, идентичной солености анализируемой воды. В тестируемые пробы объемом 10 см³ вносится по 4 науплия. Продолжительность экспозиции - 48 часов. В методике [2] используется природная или искусственная морская вода с минерализацией 33 г/дм³. В каждую пробу объемом 50 см³ вносят по 20 науплиев. Продолжительность экспозиции - 72 часа. При необходимости, для уменьшения минерализации (солености), искусственную морскую воду разбавляют дистиллированной водой. Допускается также готовить искусственную морскую воду, используя готовую морскую соль (например, марки «Wieqandt»).

Известно, что токсический эффект загрязнителей зависит от состава тестируемой воды, который влияет на их доступность для тест-организмов. В результате взаимодействия с компонентами тестируемых вод воздействие потенциально токсичных веществ на гидробионты может существенно снижаться. Чувствительность биотестов зависит также от соотношения объема тестируемой воды к количеству или массе тест-организмов. Чем больше это соотношение, тем сильнее проявляется токсический эффект при той же концентрации загрязняющих веществ. И наконец, на результат биотестирования влияет время проведения токсикологического эксперимента.

Таким образом, все три возможных фактора, от которых зависит токсический эффект, значительно различаются в этих методиках. Более того, вызывает сомнение использование отстоянной водопроводной воды для приготовления культивационного раствора, поскольку водопроводная вода не имеет точных физико-химических

характеристик, а ее состав может изменяться в течение года и различаться между регионам страны.

Исходя из этого, есть необходимость в проведении дополнительных исследований по созданию методик биотестирования высокоминерализованных водных сред на рачках для повышения эффективности экологического контроля водных объектов, а также для улучшения воспроизводимости результатов экотоксикологического анализа.

В связи с этим, цель данной работы явилось изучение чувствительности и выживаемости науплиусов артемий в различных культивационных средах при разном времени экспозиции.

Исходным материалом для процедуры биотестирования служили науплии артемии (*Artemia salina* L.) в возрасте 4-6 часов. Для сравнения разных подходов процедуры биотестирования артемиями был использован ряд культивационных сред: искусственная морская вода (общее содержание солей 10, 20, 33 промилле в дистиллированной воде), водопроводная вода с содержанием хлорида натрия 10, 20, 30 промилле; морские соли разных торговых марок (20 промилле) и морская искусственная вода с разным процентным содержанием хлорида натрия (100/0% - искусственная морская вода, 50/50, 25/75, 10/90, 5/95, 2/98, 1/99, 0/100% - дистиллированная вода с добавлением хлорида натрия). В этих культивационных средах определяли чувствительность и выживаемость тест-объекта к модельному токсиканту бихромату калия при разном времени экспозиции.

Эксперименты проводили в специальных флаконах объемом 100 см³, входящих в комплект устройства экспонирования рачков (УЭР-03). В каждый флакон с 50 см³ исследуемой воды помещалось по 10 тест-организмов в трех параллелях. Заполненные флаконы помещались в УЭР-03, которое устанавливалось в климатостат Р-2, который обеспечивал температуру 24±1 °С, фотопериод 12 часов день / 12 часов ночь и освещение 1200 - 1500 люкс. Благодаря умеренному вращению кассеты с пробами (6-8 оборот/мин) в УЭРе создавались равные световые и температурные условия для всех вариантов опыта и непрерывный газообмен с окружающей воздушной средой. Острое токсическое действие бихромата калия в исследованных культивационных средах определяли по смертности науплий после 48 и 72 часов экспозиции. Критерием острой токсичности служила гибель 50% и более тест-объектов за время эксперимента, при условии, что в контроле гибель не превышала 10%.

В результате проведенных исследований было установлено, что при длительности эксперимента в 72 часа часто наблюдается смертность рачков в контроле более 10%. В этой ситуации становится невозможным определение уровня токсичности исследуемых проб. Поэтому для получения воспроизводимых результатов биотестирования необходимо ограничить время экспонирования 48 часами. Показано также, что увеличение доли хлорида натрия в составе искусственной морской воды (50/50, 25/75 и 10/90) сопровождается повышением чувствительности артемий к бихромату калия. Воздействие токсиканта на рачков в самой искусственной морской воде существенно возрастает при ее разбавлении в ряду 33, 20 и 10 промилей.

При применении морских солей в биотестировании на артемиях требуется вести тщательный отбор, как марки солевого продукта, так и партии его выпуска. При этом во многих случаях имеет место гибель рачков в контрольном варианте сред с морскими солями, превышающая 10%. При использовании в качестве культивационной отстоянной водопроводной воды с добавлением хлорида натрия так же наблюдалась повышенная смертность артемий в контрольной среде.

Список литературы

1. Методика определения токсичности высокоминерализованных поверхностных и сточных вод, почв и отходов по выживаемости солоноватоводных

- рачков *Artemia Salina* L. / В. А. Терехова, Е. Ф. Исакова, Т. А. Самойлова, И. З. Ибатуллина. М. : МГУ, 2009. ФР 1.1.39.2006.02505. 28 с.
2. ГОСТ Р 53886-2010. Вода. Методы определения токсичности по выживаемости морских ракообразных. - Введ. 2012-01-01. М. : Стандартформ, 2012. 50 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ЯПОНСКОГО МОРЯ НА ОСНОВЕ ИЗУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ

Богатыренко Е.А.¹, Ким А.В.¹, Дункай Т.И.^{1,2}, Еськова А.И.^{1,3,4}

¹Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток

²Национальный научный центр морской биологии им. А. В. Жирмунского ДВО
РАН, г. Владивосток

³НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, г. Владивосток

⁴Тихоокеанский океанологический институт им. В. И. Ильичева ДВО РАН,
г. Владивосток

Ключевые слова: бактериальные сообщества, антропогенный пресс, мониторинг, Японское море

Антропогенное загрязнение морей приводит к вмешательству в природную среду, что может сказаться на разнообразии и биологических свойствах автохтонной микробиоты. Приспосабливаясь к поллютантам, микроорганизмы способны трансформировать и утилизировать практически все существующие в природе органические вещества. Вместе с тем экологические и эпидемиологические последствия этих адаптаций еще не определены, но можно предположить, что они могут сопровождаться приобретением микроорганизмами признаков, представляющих опасность для гидробионтов, наземных организмов и человека.

В связи с этим, целью работы стало изучить влияние антропогенного загрязнения на биологические свойства бактериальных сообществ прибрежных акваторий Японского моря.

Для проведения исследований были выбраны прибрежные акватории Японского моря, отличающиеся по гидрологическим параметрам, характеру и степени антропогенной нагрузки. Культуры бактерий получали на агаризованной питательной среде СММ (среда для морских микроорганизмов). Идентификацию полученных изолятов проводили на основе морфологических, культуральных и физиолого-биохимических свойств, а также на основе анализа структуры гена 16S рРНК. Для выделения нефтеуглеводородокисляющих микроорганизмов использовали минеральную среду с флотским мазутом. Исследование матааллорезистентности микроорганизмов проводили на ССМ с добавлением возрастающих концентраций хлоридов меди, кадмия, свинца и никеля. Изучение ферментативной активности бактерий проводили на минеральной агаризованной среде, содержащей в качестве единственного источника углерода один из следующих субстратов: крахмал, твины, желатин, хитин, хитозан, хитин-глюкановый комплекс, коллаген, клетчатку, альгинат или фукоидан. Для выявления у микроорганизмов факторов патогенности изучали способность к адгезии, а также к синтезу гемолизинов, плазмокоагулазы и гиалуронидазы. Антибиотикочувствительность определяли диско-диффузионным методом на среде Мюллера - Хинтона. Вирулентность штаммов бактерий оценивали по показателю LD₅₀.